Evaluación de la validez y precisión del hemograma automatizado (CELL-DYN 1600) en enfermedades hematológicas

Octavio Martínez, María Inés L. de Goenaga

Objetivo. Evaluar la validez y precisión del hemograma analizado automáticamente por el sistema CELL-DYN 1600, en enfermedades hematológicas.
Método. El estudio se realizó con muestras sanguíneas de pacientes que asistieron por enfermedad hematológica a la consulta externa de la Unidad de Hematología del Hospital San Juan de Dios de Santa Fe de Bogotá, y de pacientes con sospecha de enfermedad hematológica atendidos en interconsulta de los diferentes servicios de hospitalización. Se estudiaron dos mil muestras sanguíneas a las cuales se les practicaron cuantiflcaciones automatizada y manual estándar de los niveles de hemoglobina, hematócrito y recuentos de plaquetas y leucocitos. La validez del método automatizado se estableció mediante determinación de los coeficientes de correlación intraclase para variables idénticas y la precisión mediante la comparación estadística de los coeficientes de variación relativa.
Resultados. La concordancia entre los métodos de recuento hematológico manual y automatizado fue alta. No obstante, el método automatizado mostró grandes diferencias promedio de los valores medidos de leucocitos y plaquetas, así como amplias variaciones en la diferencia promedio de las mismas variables. Los mayores coeficientes de variación se encontraron en los recuentos automatizados de plaquetas y leucocitos, los cuales fueron estadísticamente diferentes de los coeficientes de variación encontrados por métodos manuales.
Conclusiones. El estudio confirma una alta concordancia entre la medición manual y automatizada (CELL-DYN 1600 System) de hemoglobina y hematócrito. No se recomienda el tamizaje y control de pacientes con enfermedades hematológicas por medio de hemogramas automatizados, dado que los límites de concordancia de los recuentos de leucocitos y plaquetas no son de utilidad clínica, y a que la precisión de tales recuentos es baja.

Introducción

El recuento sanguíneo completo representa un perfil de pruebas que ha recibido a través de los años diferentes nombres, incluido el de hemograma. El número y tipo de pruebas practicadas en el perfil hematológico ha cambiado con los años, como resultado de la introducción de analizadores automáticos de muy diversa capacidad (1).

De los sistemas automatizados introducidos en el laboratorio de hematología se dice que ahorran tiempo y permiten un mejor aprovechamiento del recurso humano, mejoran la eficiencia y reducen grandemente los riesgos biológicos (2). No obstante, a veces causan más problemas que los que resuelven, en especial cuando se trata de recuentos diferenciales de leucocitos, cuyo rendimiento diagnóstico es bajo cuando se solicita como rutina en pacientes sin enfermedad clínica aparente (3, 4).

El crecimiento tecnológico de los laboratorios es debido necesaria-

Dres. Octavio Martínez Betancur y María Inés López de Goenaga: Profesores Asistentes, Unidad de Hematología, Facultad de Medicina. Universidad Nacional de Colombia. Santa Fe de Bogotá.

mente al desarrollo de la medicina y al hecho de que nuevas terapias requieren el uso intensivo de pruebas de laboratorio para monitorizar más estrechamente al paciente. Sin embargo, no hay que pasar por alto que dicho crecimiento tecnológico también es debido al exceso de solicitudes de exámenes, particularmente en hospitales docentes (5), en los cuales el ordenar las pruebas diagnósticas se delega a los miembros del equipo de trabajo de menor rango, cuyo comportamiento en la solicitud de exámenes de laboratorio se rige por "rutinas", desarrolladas sin tener en cuenta el rendimiento de la prueba solicitada. De mayor riesgo aún es la forma como en dichas "rutinas", que pasan a grupos sucesivos, se pregoniza la idea de dar crédito únicamente a las pruebas de "última generación" tecnológica, despreciando los valiosos métodos manuales de utilidad no sólo en hospitales universitarios, sino en el área rural.

Con el fin de evaluar la validez y precisión del hemograma analizado automáticamente por el sistema CELL-DYN1600, se correlacionan cuatro variables -niveles de hemoglobina, hematócrito, recuento total de leucocitos y recuento de plaquetas- con los respectivos métodos hematológicos manuales, considerados de referencia internacional.

Material y métodos

El estudio se realizó a partir de febrero de 1995 en el laboratorio de la Unidad de Hematología del Hospital San Juan de Dios de Santa Fe de Bogotá, en colaboración con el Laboratorio Central de la misma institución.

La muestra fue tomada de pacientes con enfermedades hematológicas que asistieron a la consulta externa de la unidad y de pacientes hospitalizados en diferentes servicios del hospital, interconsultados por sospecha de enfermedad hematológica. Cada paciente tuvo acceso al estudio sólo en una oportunidad.

A cada paciente se le tomó una muestra por punción con jeringa de plástico y recolectando 5 mL de sangre venosa en tubo de vidrio que contenía anticoagulante Na_2 EDTA. En todos los casos transcurrieron menos de dos horas entre la toma de la muestra y la realización de los análisis.

En cada muestra de sangre se determinaron el nivel de hemoglobina, hematócrito, recuento de leucocitos y recuento de plaquetas, mediante análisis automatizado en el sistema CELL-DYN 1600 (Abbott Laboratories) y mediante técnica hematológica manual, considerada técnica estándar.

El CELL-DYN 1600 es calibrado en forma regular, dependiendo de los requerimientos de control de calidad del Laboratorio Central. El manejo del equipo se realiza siguiendo las normas técnicas del manual del usuario (6).

El CELL-DYN 1600 aspira 30 microlitros de sangre completa del tubo de recolección y adiciona un volumen de diluyente de 7.5 mL para una relación de 1:251. La muestra diluida es luego dividida en dos. Cien microlitros de la muestra diluida 1:125 son aspirados y mezclados con la adición de 5 mL de diluyente para el análisis de parámetros de glóbulos rojos y plaquetas. El resto de la dilución 1:125 es mezclada con 1.0 mL de reactivo de lisis, el cual lisa los glóbulos rojos y convierte la hemoglobina en pigmento que contiene cianuro. Después del conteo y medición de los glóbulos blancos, el remanente de la dilución del lisado se transfiere a una celdilla de flujo para la hemoglobina, donde se mide la capacidad de la dilución para absorber luz a una longitud de onda de 540 nm. El sistema emplea impedancia eléctrica para contar glóbulos blancos, glóbulos rojos y plaquetas, a medida que pasan a través de la apertura en el transductor. El resultado del hemaócrito es calculado a partir del recuento de glóbulos rojos y del volumen celular promedio (VCM), usando la fórmula:

Hematócrito = (glóbulos rojos X VCM)/10

Respecto a los métodos manuales estándar, la determinación fotocolorimétrica de la concentración de hemoglobina se realizó según normas del International Committee for Standardization in Haematology (ICSH). por el método de la cianmetahemoglobina (7). La determinación del hematócrito mediante centrifugación se realizó siguiendo las recomendaciones del ICSH para la técnica del micrométodo (8). Los recuentos de leucocitos y plaquetas se realizaron mediante el método directo en cámara de Neubauer (9, 10).

Personas diferentes procesaron las muestras por métodos automatizado y manual y consignaron los resultados en forma independiente para posterior análisis. Los resultados se informan en unidades SI (11).

Métodos estadísticos

Se emplearon medias y medianas como medidas descriptivas de la posición central de la distribución para variables distribuidas de manera normal y asimétrica, respectivamente. Como

medida de dispersión de las variables y con finalidad comparativa entre ellas (variación relativa), se empleó el coeficiente de variación. Los rangos intercuartiles (RIQ) para cada variable se calcularon mediante la diferencia entre el cuartil superior (Q3) y el cuartil inferior (Q1). Los límites precisos de referencia, superior (LS) e inferior (LI), para valores inusualmente extremos de las mediciones (*outliers)* se determinaron mediante las fórmulas LS = Q3 + (1.5 * RIQ) y LI = Q1 - (1.5 * RIQ). El análisis de concordancia entre los métodos manual y automatizado para las medidas variables se realizó mediante el coeficiente de correlación intraclase, según fórmula propuesta por Armitage y Berry para la comparación de dos métodos de medición (12).

Los límites de concordancia del método automatizado fueron calculados e interpretados siguiendo los postulados de Bland y Altman (13). La comparación de porcentajes se efectuó mediante prueba de chi-cuadrado. Los valores de $p < 0.05$ fueron considerados de significación estadística. Se empleó el programa estadístico Epi-Info versión 6.0 (14).

Resultados

Se evaluaron en forma consecutiva 2.000 muestras sanguíneas, con un promedio de 10,4 muestras por día (DS 4,4 muestras).

Las comparaciones de las distribuciones de cada una de las variables analizadas mediante métodos manual estándar y automatizado (CELL-DYN 1600) se presentan en las Figuras 1 a 4 y se resumen en la Tabla 1. A cada distribución de variable analiza-

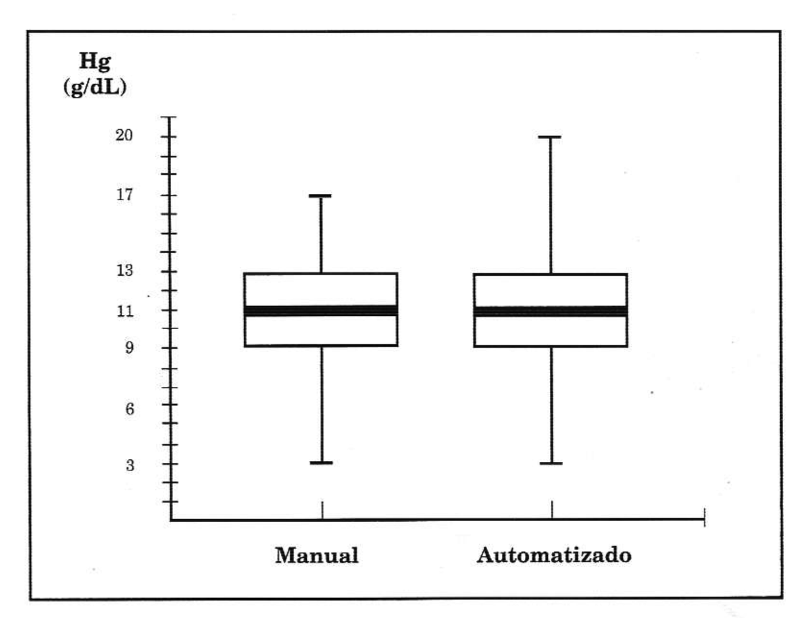


Figura 1. *Comparación de las distribuciones de hemoglobina (Hg) según el método de análisis.*

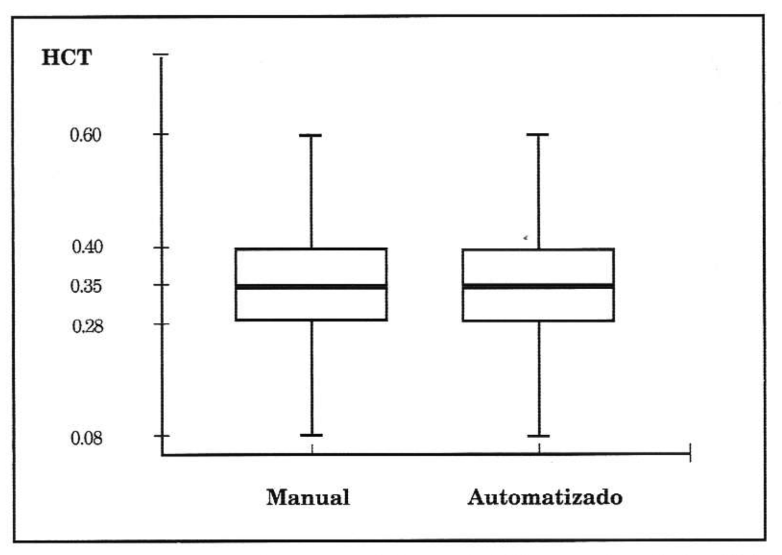


Figura2. *Comparación de las distribuciones de hemotócrito (HCT) según el método de análisis.*

Variable	Media	Mediana	Rango intercuartil	Coeficiente de variación (%)
Hemoglobina (g/dL) - MM	11.1	11.0	4.0	27
Hemoglobina (g/dL) - MA	11.3	11.4	4.5	27
Hematocrito - MM	0.34	0.35	0.13	27
Hematocrito - MA	0.34	0.34	0.13	27
Plaquetas (10^9/L) - MM	311	290	200	61
Plaquetas (10^9/L) - MA	284	276	254	66
Leucocitos (10^9/L) - MM	9.4	8.0	4.7	96
Leucocitos (10^9/L) - MA	8.9	7.1	4.7	102

Tabla 1. *Distribución de variables según método de análisis: maual (MM) vs automatizado (MA).*

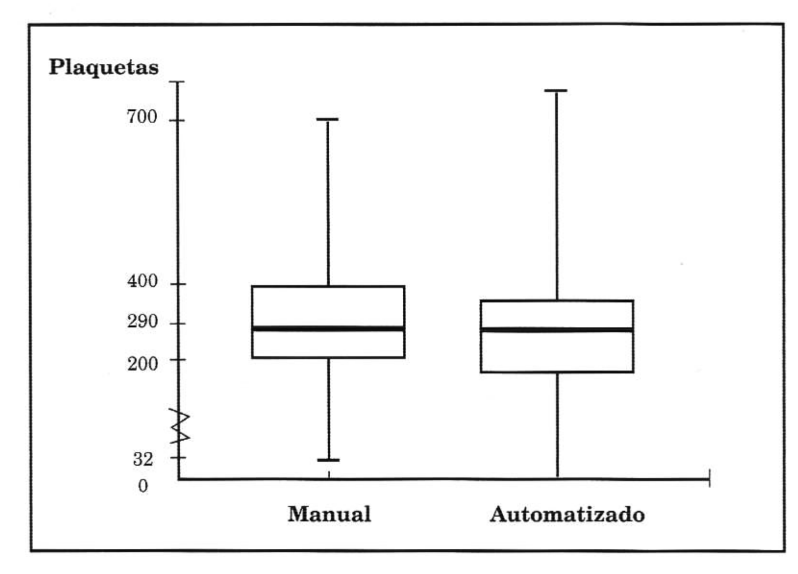


Figura 3. *Comparación de las distribuciones de recuentos plaquetarios (10^9/L) según el método de análisis.*

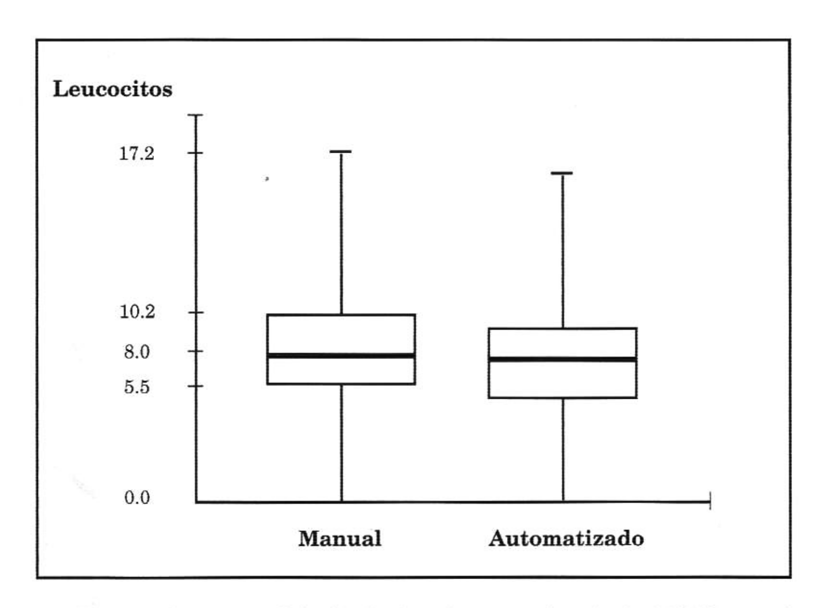


Figura 4. *Comparación de las distribuciones de recuentos leucocitarios (10^9/L) según el método de análisis.*

Variables	rI	Diferencia promedio (desviación estándar)	Límites de Concordancia
Hemoglobina (g/dL)	0.97	-0.13 (0.69)	-1.53, + 1.27
Hematocrito	0.98	-0.001 (0.01)	- 0.03 + 0.03
Leucocitos (10^9/L)	0.93	1.5 (5.95)	- 10.43, + 13.37
Plaquetas (10^9/L)	0.85	38.7 (99.52)	- 160.28, + 237.82

Tabla 2. *Coeficientes de correlación interclase (rI) para variables idénticas entre métodos manual y automatizado.*

da se le calcularon los puntos de corte inferior y superior, a partir de los cuales todo valor fue considerado inusualmente extremo *(outlier)*; tales puntos se emplearon como límites correspondientes para los diagramas de cajas, sin incluir en la diagramación ninguna de las mediciones inusualmente extremas. Unicamente mostraron distribuciones simétricas con ambos métodos de medición las variables hemoglobina y hematócrito; los recuentos de plaquetas y leucocitos mostraron distribuciones asimétricas.

La Tabla 2 muestra los coeficientes de correlación intraclase para variables idénticas analizadas por métodos manual y automatizado, la diferencia promedio entre pares de valores y los límites de concordancia para cada variable. No obstante los altos coeficientes de correlación intraclase para todas las variables analizadas, se observan muy amplios límites de concordancia en los recuentos de leucocitos y de plaquetas.

Los coeficientes de variación de las mediciones de variables obtenidas por los métodos automatizado y manual estándar (Tabla 1) mostraron que las mediciones de mayor dispersión relativa fueron los recuentos de plaquetas y leucocitos, por ambos métodos.

Al comparar los coeficientes de variación de los recuentos manual y automatizado de plaquetas, se observó diferencia estadísticamente significativa (x^2 10,8, p=0,001). que habla de un mayor grado de imprecisión de las mediciones de recuentos automatizados; lo mismo sucedió con el recuento automatizado de leucocitos (x^2 81,6, p = 0).

Discusión

En hematología los métodos manuales de laboratorio para medición de los niveles de hemoglobina, hematócrito, plaquetas y leucocitos, siguen siendo considerados de referencia internacional (prueba estándar) para la validación de los analizadores automáticos.

La gran solicitud de estas pruebas de laboratorio en los hospitales, pruebas que son consideradas de "rutina" en el ejercicio diagnóstico, ha generado la necesidad de automatizar los laboratorios clínicos para el tamizaje de pacientes con variada patología clínica. No obstante, en pacientes con patología específicamente hematológica que altera cuantitativamente las variables, cabe tener un mayor cuidado con la solicitud de dichos exámenes paraclínicos y en especial con la solicitud de recuentos plaquetarios y de leucocitos.

En pacientes con alteraciones hematológicas que obligaron la consulta al servicio de Hematología del Hospital San Juan de Dios de Santa Fe de Bogotá, la concordancia entre los dos métodos de recuento hematológico fue alta. No obstante, el promedio de la diferencia de los recuentos de leucocitos y plaquetas así como la variación (desviación estándar) en la diferencia promedio de ambos recuentos, hacen clínicamente inaceptable el método automatizado. Los límites de concordancia encontrados para recuentos de leucocitos y plaquetas superan los límites de utilidad clínica. El método automatizado puede informar resultados de recuentos plaquetarios de 160 x 10^9/L por debajo o 237 x 10^9/L por encima de los valores del método manual y recuentos leucocitarios 10 x 10^9/L por debajo o 13 x 10^9/L por encima de los resultados del método manual. Por ende, no puede generalizarse la práctica del método automatizado de medición de recuentos de plaquetas y leucocitos como prueba exclusiva para el tamizaje y seguimiento de pacientes con alteraciones cuantitativas hematológicas; se recomienda siempre corroborar mediante prueba manual estándar las mediciones de recuentos plaquetarios y de leucocitos hechas por métodos automatizados.

Es de resaltar la mayor imprecisión, estadísticamente significativa, de los métodos automatizados de recuento de plaquetas y leucocitos, otro hecho que obliga a interpretar los datos informados por los analizadores automáticos dentro del contexto clínico del paciente y en caso de duda, cotejarlo con un recuento manual estándar.

Summary

The current study confirms high agreement between manual and automated (CELL-DYN 1600 System) analysis of hemoglobin level and hematocrit. The automated hemogram cannot be recommended for screening and control of patients with blood diseases, since the concordance limits of leucocytes and platelet counts are not of medical usefulness and because the low precision of such automated counts.

Referencias

1. **Gulati GL, Hyun BH.** The automated CBC. A current perspective. *Hematol/Oncol Clinics North Am* 1994:8: 593 -603.
2. **Rothe M, Wingfield S. Barranco P, Charache** S. Robotics in the hematology laboratory. An evaluation of the productivity of the Sysmex HS-330. *Am J Clin Pathol* 1995; 103: 154-158.
3. **Duncan KL, Gottfriend EL.** Utility of the three-part leukocyte differential count. *Am J Clin Pathol* 1987; **88**: 308-313.
4. **Lundberg GD.** Perseveration of laboratory test ordering: A syndrome affecting clinicians. *JAMA* 1983: **249:** 639-640.
5. **Wong ET, McCarron MM, Shaw ST.** Ordering of laboratory tests in a teaching hospital. Can it be improved. *JAMA* 1983; **249:** 3076-3080.
6. CELL-DYN 1600 System. Operator's Manual. Abbott Laboratories 1993.
7. **Vives JL1. Aguilar JL1.** Métodos para la determinación de la concentración de hemoglobina en sangre. En: Vives J1L, Aguilar JL1. Manual de técnicas de laboratorio en hematología. Salvat Editores Colombiana, S. A. Bogotá 1989: 89-96.
8. **Vives JL1. Aguilar JL1.** Determinación del hematócrito mediante centrifugación. En: Vives JL1. Aguilar JL1. Manual de técnicas de laboratorio en hematología. Salvat Editores Colombiana S.A. 1989: 108-114.
9. **Vives JL1. Aguilar JL1.** Recuento **de** leucocitos. En: Vives JL1, Aguilar JL1. Manual de técnicas de laboratorio en hematología. Salvat Editores Colombiana S.A. 1989: 70-72.
10. **Vives JL1**, **Aguilar JL1.** Recuento de plaquetas. Método directo. En: Vives JL1, Aguilar JL1. Manual de técnicas de laboratorio en hematología. Salvat Editores Colombiana S.A. 1989: 405.
11. **Young DS.** Implementation of SI Units for clinical laboratory data-style. Specifications and conversion tables. *Ann Intent Med* 1987: **106:** 114-129.
12. **Armitage P, Berry G.** Intraclass correlation. In: Armitage P. Berry G. Statistical Methods in Medical Research. 3rd ed. Oxford: Blackwell Science Ltd.: 1994: 273-276.
13. **Bland JM, Altman DG.** Statistical Methods for Assessing Agreement Between Two Clinical Measurement. *Lancet* 1986; 1: **307-310.**
14. **Dean AG. Dean JA. Coulombier D. et al.** EpiInfo, Versión 6: A Word Processing, Database, and Statistics Program for Epidemiology on Microcomputers. Centers for Disease Control and Prevention. Atlanta, Georgia. U.S.A., 1994.